



INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(51) International Patent Classification ⁶: D06P 1/00	A1	(11) International Publication Number: WO 97/23684 (43) International Publication Date: 3 July 1997 (03.07.97)
(21) International Application Number: PCT/US96/20625 (22) International Filing Date: 20 December 1996 (20.12.96) (30) Priority Data: 60/009,198 22 December 1995 (22.12.95) US 60/018,619 2 May 1996 (02.05.96) US (71) Applicants: NOVO NORDISK BIOCHEM NORTH AMERICA, INC. [US/US]; 77 Perry Chapel, Franklinton, NC 27525 (US); NOVO NORDISK A/S [DK/DK]; Novo Allé, DK-2880 Bagsværd (DK). (72) Inventors: BARFOED, Martin; 4708 Royal Troon Drive, Raleigh, NC 27604 (US). KIRK, Ole; Bisp Peders Vej 6, DK-2830 Virum (DK). (74) Agents: ZELSON, Steve, T. et al.; Novo Nordisk of North America, Inc., Suite 6400, 405 Lexington Avenue, New York, NY 10174 (US).		(81) Designated States: AL, AU, BB, BG, BR, CA, CN, CZ, EE, GE, HU, IL, IS, JP, KP, KR, LK, LR, LT, LV, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, SG, SI, SK, TR, TT, UA, UZ, VN, ARIPO patent (KE, LS, MW, SD, SZ, UG), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Published <i>With international search report. Before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of the receipt of amendments.</i>
(54) Title: ENZYMATIC METHOD FOR DYEING (57) Abstract The present invention relates to methods of dyeing a material, comprising treating the material with a dyeing system which comprises (a) one or more mono-, di- or polycyclic aromatic or heteroaromatic compounds, and (b) (i) a hydrogen peroxide source and an enzyme exhibiting peroxidase activity or (ii) an enzyme exhibiting oxidase activity on the one or more aromatic or heteroaromatic compounds; wherein the material is a fabric, yarn, fiber, garment or film made of cotton, diacetate, flax, linen, lyocel, polyacrylic, polyamide, polyester, ramie, rayon, tencel, or triacetate.		

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11)特許出願公表番号

特表2000-502412

(P2000-502412A)

(43)公表日 平成12年2月29日(2000.2.29)

(51)Int.Cl.⁷

識別記号

F I

ターコード* (参考)

D 0 6 P 1/32

D 0 6 P 1/32

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 52 頁)

(21)出願番号 特願平9-523863
 (86)(22)出願日 平成8年12月20日(1996.12.20)
 (85)翻訳文提出日 平成10年6月9日(1998.6.9)
 (86)国際出願番号 PCT/US96/20625
 (87)国際公開番号 WO97/23684
 (87)国際公開日 平成9年7月3日(1997.7.3)
 (31)優先権主張番号 60/009,198
 (32)優先日 平成7年12月22日(1995.12.22)
 (33)優先権主張国 米国(US)
 (31)優先権主張番号 60/018,619
 (32)優先日 平成8年5月2日(1996.5.2)
 (33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 ノボ ノルディスク バイオケム ノース
 アメリカ, インコーポレイティド
 アメリカ合衆国, ノースカロライナ
 27525, フランクリントン, ベリー チャ
 ベル 77
 (71)出願人 ノボ ノルディスク アクティーゼルスカ
 プ
 デンマーク国, デーヨー—2880, バグスバ
 エルト, ノボ アレ
 (74)代理人 弁理士 石田 敬 (外4名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 染色のための酵素的な方法

(57)【要約】

本発明は材料を染色する方法であって、当該材料を
 (a) 1又は複数種の単環、二環又は多環式の芳香族又
 はヘテロ芳香族化合物、並びに (b) (1) 過酸化水素
 源及びペルオキシダーゼ活性を発揮する酵素又は (1)
 1もしくは複数種の芳香族もしくはヘテロ芳香族化合物
 に対してオキシダーゼ活性を発揮する酵素を含んで成る
 染色剤で処理することを含んで成る方法に関連する。こ
 こで当該材料は綿、ジアセテート、亜麻、リンネル、リ
 オセル、ポリアクリル、ポリアミド、ポリエステル、ラ
 ミー、レーヨン、テンセル又はトリアセテート製の布
 帛、糸、繊維、衣服又はフィルムである。

【特許請求の範囲】

1. 材料を染色する方法であって、当該材料を (a) 1 又は複数種の官能基又は置換基により任意的に置換されている 1 又は複数種の単環、二環又は多環式芳香族又はヘテロ芳香族化合物：ここで各官能基又は置換基はハロゲン；スルホ；スルホナト；スルファミノ；スルファニル；アミノ；アミド；ニトロ；アゾ；イミノ；カルボキシ；シアノ；ホルミル；ヒドロキシ；ハロカルボニル；カルバモイル；カルバミドイル；ホスホナト；ホスホニル；C₁₋₁₈アルキル；C₁₋₁₈アルケニル；C₁₋₁₈アルキニル；C₁₋₁₈アルコキシ；C₁₋₁₈オキシカルボニル；C₁₋₁₈オキソアルキル；C₁₋₁₈アルキルスルファニル；C₁₋₁₈アルキルスルホニル；C₁₋₁₈アルキルイミノ又はアミノであって 1, 2 又は 3 個の C₁₋₁₈アルキル基より成る群から選ばれ、ここで各 C₁₋₁₈アルキル、C₁₋₁₈アルケニル及び C₁₋₁₈アルキニル基は任意の上記の官能基又は置換基により一、二又は多置換されていてよい；並びに (b) (i) 過酸化水素源及びペルオキシダーゼ活性を発揮する酵素又は (ii) 1 もしくは複数種の芳香族もしくはヘテロ芳香族化合物に対してオキシダーゼ活性を発揮する酵素；を含んで成る染色剤で処理することを含んで成り、ここで前記材料が綿、ジアセテート、亜麻、リンネル、リオセル、ポリアクリル、ポリアミド、ポリエステル、ラミー、レーヨン、テンセル又はトリアセテート製の布帛、糸、繊維、衣料又はフィルムである、前記方法。

2. 前記 1 又は複数種の単環、二環又は多環式芳香族又はヘテロ芳香族がナフトールである、請求項 1 記載の方法。

3. 前記 1 又は複数種の単環、二環又は多環式芳香族又はヘテロ芳香族が芳香族ジアミンである、請求項 1 記載の方法。

4. 前記 1 又は複数種の単環、二環又は多環式芳香族又はヘテロ芳香族がアミノフェノールである、請求項 1 記載の方法。

5. 前記 1 又は複数種の単環、二環又は多環式芳香族又はヘテロ芳香族がフェノールである、請求項 1 記載の方法。

6. 前記材料が綿製である、請求項 1 記載の方法。

7. 前記材料がジアセテート製である、請求項 1 記載の方法。

8. 前記材料が亜麻製である、請求項1記載の方法。
9. 前記材料がリンネル製である、請求項1記載の方法。
10. 前記材料がリオセル製である、請求項1記載の方法。
11. 前記材料がポリアクリル製である、請求項1記載の方法。
12. 前記材料がポリアミド製である、請求項1記載の方法。
13. 前記材料がナイロン製である、請求項12記載の方法。
14. 前記材料がポリエステル製である、請求項1記載の方法。
15. 前記材料がラミー製である、請求項1記載の方法。
16. 前記材料がレーヨン製である、請求項1記載の方法。
17. 前記材料がビスコース製である、請求項1記載の方法。
18. 前記材料がテンセル製である、請求項1記載の方法。
19. 前記材料がトリアセテート製である、請求項1記載の方法。
20. 前記染色剤が1又は複数種の単環、二環又は多環式芳香族又はヘテロ芳香族化合物に対してペルオキシダーゼ活性を発揮する酵素と過酸化水素源とを含んで成る、請求項1記載の方法。
21. 前記酵素がペルオキシダーゼ又はハロペルオキシダーゼである、請求項20記載の方法。
22. 前記染色剤が1又は複数種の単環、二環又は多環式芳香族又はヘテロ芳香族化合物である、請求項1記載の方法。
23. 前記酵素がビリルビンオキシダーゼ、カテコールオキシダーゼ、ラッカーゼ、 α -アミノフェノールオキシダーゼ及びポリフェノールオキシダーゼより成る群から選ばれる、請求項22記載の方法。
24. 前記材料を前記染色剤で約5～約120℃の範囲の温度で処理する、請求項1記載の方法。
25. 前記材料を前記染色剤で約4～約10の範囲のpHで処理する、請求項1記載の方法。
26. 前記染色剤がナトリウム、カリウム、カルシウム及びマグネシウムイオンより成る群から選ばれる一又は二価のイオンを更に含んで成る、請求項1記載の

方法。

27. 前記染色剤がポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、ポリアスパルテート、ポリビニルアミド及びポリエチレンオキシドより成る群から選ばれるポリマーを更に含んで成る、請求項1記載の方法。

28. 前記染色剤がアニオン、非イオン又はカチオン界面活性剤を更に含んで成る、請求項1記載の方法。

29. 前記酵素系が酵素の活性を高める試薬を更に含んで成る、請求項1記載の方法。

【発明の詳細な説明】

染色のための酵素的な方法

発明の分野

本発明は材料を染色する方法であって、当該材料を (a) 1 又は複数種の単環、二環又は多環式の芳香族又はヘテロ芳香族化合物、並びに (b) (i) 過酸化水素源及びペルオキシダーゼ活性を発揮する酵素又は (ii) 1 もしくは複数種の芳香族もしくはヘテロ芳香族化合物に対してオキシダーゼ活性を発揮する酵素を含んで成る染色剤で処理することを含んで成る方法に関連する。ここで当該材料は綿、ジアセテート、亜麻、リンネル、リオセル、ポリアクリル、ポリアミド、ポリエステル、ラミー、レーヨン、テンセル又はトリアセテート製の布帛、糸、繊維、衣料又はフィルムである。

発明の背景

繊維の染色は往々にして布帛及び衣料の製造において最も重要且つ費用のかさむ単独工程と考えられている。繊維産業において、2通りの主たる工程、即ちバッチ式及び連続式工程が染色のために現在利用されている。バッチ式工程においては、とりわけジェット、ドラム及びバット染色が利用されている。連続工程においては、とりわけバジング方式が利用されている。例えば I. D. Rattee, Inc. , M. Carr (編) 「The Chemistry of the Textiles Industry」 Blackie Academic and Professional, Glasgow, 1995, p. 276を参照のこと。

主要な染料のクラスはアゾ (モノー、ジー、トリ等)、カルボニル (アントラキノン及びインジゴ誘導体)、シアニン、ジー及びト

リフェニルメタン、並びにフタロシアニンである、これらの染料は全て発色を担う発色基を含む。酸化／還元メカニズムの関与する3タイプの染料、即ち、バット、硫黄及びアゾ染料がある。これらの染色における酸化／還元工程の目的は染料の不溶性及び可溶性形態間での変化にある。

オキシドリダクターゼ、例えばオキシダーゼ及びペルオキシダーゼが当業界において公知である。

オキシドリダクターゼの一のクラスはラッカーゼ (ベンゼンジオール：酵素オ

キシドリダクターゼ)であり、これはフェノール及び近縁化合物の酸化を触媒する多重銅含有酵素である。ラッカーゼ媒介式酸化は適当な基質からの芳香族ラジカル中間体の生産を供する。このようにして生成される中間体の究極的なカップリングは二重、オリゴマー及びポリマー反応生成物の組合せを供する。かかる反応は自然界においては生合成経において重要であり、それはメラニン、アルカロイド、毒素、リグニン及びフミン酸の形成に至る。

別のオキシドリダクターゼのクラスは過酸化水素の存在下で化合物を酸化するペルオキシダーゼである。

ラッカーゼは毛髪染色に有用であることが認められている。例えばPCT出願PCT/US95/06815及びPCT/US95/06816を参照のこと。ヨーロッパ特許第 0,504,005号はウールを 6.5~8.0 の範囲のpHで染色するためにラッカーゼが利用できることを開示する。

Saundersら Peroxidase, London, 1964, p 10以降はペルオキシダーゼが様々なアミノ及びフェノール系化合物に作用し、発色を供することを開示している。

日本国特開平6-316874号は酸素含有媒体による綿の処理を含んで成る綿を染色するための方法を開示しており、それにおいてはアスコルビン酸オキシダーゼ、ピリルビンオキシダーゼ、カタラーゼ

、ラッカーゼ、ペルオキシダーゼ及びポリフェノールオキシダーゼより成る群から選ばれる酸化還元酵素が酸素を発生させるために利用されれている。

W091/05839はオキシダーゼ及びペルオキシダーゼが繊維染料の転写を阻害するのに有用であることを開示している。

本発明の目的は布帛を染色する酵素的方法の提供にある。

発明の概要

本発明は材料を染色する方法であって、当該材料を (a) 1又は複数の官能基又は置換基により任意的に置換されている1又は複数種の単環、二環又は多環式芳香族又はヘテロ芳香族化合物、ここで各官能基又は置換基はハロゲン；スルホ；スルホナト；スルファミノ；スルファニル；アミノ；アミド；ニトロ；アゾ；イミノ；カルボキシ；シアノ；ホルミル；ヒドロキシ；ハロカルボニル；カルバ

モイル；カルバミドイル；ホスホナト；ホスホニル； C_{1-10} アルキル； C_{1-10} アルケニル； C_{1-10} アルキニル； C_{1-10} アルコキシ； C_{1-10} オキシカルボニル； C_{1-10} オキソアルキル； C_{1-10} アルキルスルファニル； C_{1-10} アルキルスルホニル； C_{1-10} アルキルイミノ又はアミノであって1，2又は3個の C_{1-10} アルキル基により置換されているもの；より成る群から選ばれる；並びに（b）（i）過酸化水素源及びペルオキシダーゼ活性を発揮する酵素又は（ii）1もしくは複数種の芳香族もしくはヘテロ芳香族化合物に対してオキシダーゼ活性を発揮する酵素；を含んで成る染色剤で処理することを含んで成る方法に関連し、ここで当該材料は綿、ジアセテート、亜麻、リンネル、リオセル、ポリアクリル、ポリアミド（例えばナイロン）、ポリエステル、ラミー、レーヨン（例えばビスコース）、テンセル又はトリアセテート製の布帛、糸、繊維、衣服又はフィルムである。

ムである。

発明の詳細な説明

材料を染色するためのオキシドリダクターゼの利用はいくつかの有意義な利点を有する。例えば、本発明の方法において利用する染色剤は安価な着色前駆体を利用する。更に、当該方法における温和な条件（例えば低温及び短い時間）は布帛に対する損傷を少なくし、且つエネルギー消費を少なくする。

本発明の方法において、材料は1又は複数種の単環、二環又は多環式芳香族又はヘテロ芳香族化合物を利用して染色する。ここで各化合物は任意的に1又は複数の官能基又は置換基により置換されており、ここで各官能基又は置換基はハロゲン；スルホ；スルホナト；スルファミノ；スルファニル；アミノ；アミド；ニトロ；アゾ；イミノ；カルボキシ；シアノ；ホルミル；ヒドロキシ；ハロカルボニル；カルバモイル；カルバミドイル；ホスホナト；ホスホニル； C_{1-10} アルキル； C_{1-10} アルケニル； C_{1-10} アルキニル； C_{1-10} アルコキシ； C_{1-10} オキシカルボニル； C_{1-10} オキソアルキル； C_{1-10} アルキルスルファニル； C_{1-10} アルキルスルホニル； C_{1-10} アルキルイミノ又はアミノであって1，2又は3個の C_{1-10} アルキル基により置換されたものより成る群から選ばれる。 C_{1-10} アルキル、 C_{1-10} アルケニル及び C_{1-10} アルキニル基は任意の上記の官能基又は置換基によ

り一、二又は多置換されていてよい。かかる単環、二環又は多環式芳香族又はヘテロ芳香族化合物には、限定することなく、アクリジン、アントラセン、アズレン、ベンゼン、ベンゾフラン、ベンゾチアゾール、ベンゾチアゾリン、カルボリン、カルバゾール、シンノリン、クロマン、クロメン、クリセン、フルベン、フラン、イミダゾール、インダゾール、インデン、インドール、イン

ドリン、インドリジン、イソチアゾール、イソキノリン、イソキサゾール、ナフトレン、ナフチレン、ナフチルピリジン、オキサゾール、ペリレン、フェナントレン、フェナジン、フタリジン、プテリジン、プリン、ピラン、ピラゾール、ピレン、ピリダジン、ピリダゾン、ピリジン、ピリミジン、ピロール、キナゾリン、キノリン、キノキサリン、スルホニル、チオフエン及びトリアジンが含まれ、それらは任意的に置換されている。かかる化合物の例には限定することなく、芳香族ジアミン、アミノフェノール、フェノール及びナフトールが含まれる。

本発明において利用するための芳香族及びヘテロ芳香族化合物の例には、限定することなく下記のものが含まれる：

3, 4-ジエトキシアニリン

2-メトキシ-p-フェニレンジアミン

1-アミノ-4-b-メトキシエチルアミノ-ベンゼン (N-b-メトキシエチル-p-フェニレンジアミン)

1-アミノ-4-ビス-(b-ヒドロキシエチル)-アミノベンゼン (N, N-ビス-(b-ヒドロキシエチル)-p-フェニレンジアミン)

2-メチル-1, 3-ジアミノ-ベンゼン (2, 6-ジアミノトルエン)

2, 4-ジアミノトルエン

2, 6-ジアミノトルエン

1-アミノ-4-スルホナト-ベンゼン

1-N-メチルスルホナト-4-アミノベンゼン

1-メチル-2-ヒドロキシ-4-アミノベンゼン (3-アミノ o-クレゾール)

1-メチル-2-ヒドロキシ-4-b-ヒドロキシエチルアミノ

ベンゼン (2-ヒドロキシ-4-b-ヒドロキシエチルアミノ-トルエン)

1-ヒドロキシ-4-メチルアミノ-ベンゼン (p-メチルアミノフェノール)

1-メトキシ-2, 4-ジアミノ-ベンゼン (2, 4-ジアミノアニソール)

1-エトキシ-2, 3-ジアミノ-ベンゼン (2, 4-ジアミノフェネトール)

1-b-ヒドロキシエチルオキシ-2, 4-ジアミノ-ベンゼン (2, 4-ジアミノフェノキシエタノール)

1, 3-ジヒドロキシ-2-メチルベンゼン (2-メチルレソルシノール)

1, 2, 4-トリヒドロキシベンゼン

1, 2, 4-トリヒドロキシ-5-メチルベンゼン (2, 4, 5-トリヒドロキシトルエン)

2, 3, 5-トリヒドロキシトルエン

4, 8-ジスルホナト-1-ナフトール

3-スルホナト-6-アミノ-1-ナフトール (J 酸)

6, 8-ジスルホナト-2-ナフトール

1, 4-フェニレンジアミン

2, 5-ジアミノトルエン

2-クロロ-1, 4-フェニレンジアミン

2-アミノフェノール

3-アミノフェノール

4-アミノフェノール

1, 3-フェニレンジアミン 1-ナフトール

2-ナフトール

4-クロロレソルシノール

1, 2, 3-ベンゼントリオール (ピロガロール)

1, 3-ベンゼンジオール

1, 2-ベンゼンジオール (ピロカテコール)

2-ヒドロキシ-シンナミン酸

3-ヒドロキシ-シンナミン酸

4-ヒドロキシ-シンナミン酸

2, 3-ジアミノ安息香酸

2, 4-ジアミノ安息香酸

3, 4-ジアミノ安息香酸

3, 5-ジアミノ安息香酸

メチル 2, 3-ジアミノベンゾエート

エチル 2, 3-ジアミノベンゾエート

イソプロピル 2, 3-ジアミノベンゾエート

メチル 2, 4-ジアミノベンゾエート

エチル 2, 4-ジアミノベンゾエート

イソプロピル 2, 4-ジアミノベンゾエート

メチル 3, 4-ジアミノベンゾエート

エチル 3, 4-ジアミノベンゾエート

イソプロピル 3, 4-ジアミノベンゾエート

メチル 3, 5-ジアミノベンゾエート

エチル 3, 5-ジアミノベンゾエート

イソプロピル 3, 5-ジアミノベンゾエート

N, N-ジメチル-3, 4-ジアミノ安息香酸アミド

N, N-ジエチル-3, 4-ジアミノ安息香酸アミド

N, N-ジプロピル-3, 4-ジアミノ安息香酸アミド

N, N-ジブチル-3, 4-ジアミノ安息香酸アミド

4-クロロ-1-ナフトール

N-フェニル-p-フェニレンジアミン

3, 4-ジヒドロキシベンズアルデヒド

ピロル

ピロル-2-イミダゾール

1, 2, 3-トリアゾール

ベンゾトリアゾール

ベンズイミダゾール

イミダゾール

インドール

1-アミノ-8-ヒドロキシナフタレン-4-スルホン酸 (S 酸)

4, 5-ジヒドロキシナフタレン-2, 7-ジスルホン酸 (クロモトロピン酸
)

アントラニリン酸

4-アミノ安息香酸 (PABA)

2-アミノ-8-ナフトール-6-スルホン酸 (ガンマー酸)

5-アミノ-1-ナフトール-3-スルホン酸 (M 酸)

2-ナフトール-3, 6-ジスルホン酸 (R 酸)

1-アミノ-8-ナフトール-2, 4-ジスルホン酸 (シカゴ酸)

1-ナフトール-4-スルホン酸 (ネビル-ウィンサー酸)

ベリ酸

N-ベンゾイル J 酸

N-フェニル J 酸

1, 7-クレベス酸

1, 6-クレベス酸

ボン酸

ナフトール AS

ディスパースブラック 9

ナフトール AS OL

ナフトール AS PH

ナフトール AS KB

ナフトール AS BS

ナフトール AS D

ナフトールAS B 1

モルダントブラック 3 CI 14640 (エリオクロムブルーブラック B)

4-アミノ-5-ヒドロキシ-2, 6-ナフタレンジスルホン酸 (H 酸)

ファットブラウンRRソルベントブラウン 1 (CI 11285)

ヒドロキノン

マンデリン酸

メラミン

o-ニトロベンズアルデヒド

1, 5-ジヒドロキシナフタレン

2, 6-ジヒドロキシナフタレン

2, 3-ジヒドロキシナフタレン

ベンジルイミダゾール

2, 3-ジアミノナフタレン

1, 5-ジアミノナフタレン

1, 8-ジアミノナフタレン

サリチル酸

3-アミノサリチル酸

4-アミノサリチル酸

5-アミノサリチル酸

メチル-3-アミノサリチレート

メチル-4-アミノサリチレート

メチル-5-アミノサリチレート

エチル-3-アミノサリチレート

エチル-4-アミノサリチレート

エチル-5-アミノサリチレート

プロピル-3-アミノサリチレート

プロピル-4-アミノサリチレート

プロピル-5-アミノサリチレート

サリチル酸アミド

4-アミノチオフェノール

4-ヒドロキシチオフェノール アニリン

4, 4'-ジアミノジフェニルアミンスルフェート

4-フェニルアゾアニリン

4-ニトロアニリン

N, N-ジメチル-1, 4-フェニレンジアミン

N, N-ジエチル-1, 4-フェニレンジアミン

ディスパース オレンジ 3

ディスパース イエロー 9

ディスパース ブルー 1

N-フェニル-1, 2-フェニレンジアミン

6-アミノ-2-ナフトール

3-アミノ-2-ナフトール

5-アミノ-1-ナフトール

1, 2-フェニレンジアミン

2-アミノピリミジン

4-アミノキナルジン

2-ニトロアニリン

3-ニトロアニリン

2-クロロアニリン

3-クロロアニリン

4-クロロアニリン

4-(フェニルアゾ)レソルシノール(スーダンオレンジG, CI11920)

スーダンレッドB, CI 26110

スーダンレッドB, CI 26050

4'-アミノアセトアニリド

アリザリン

1-アントラミン (1-アミノアントラセン)

1-アミノアントラキノ

アントラキノ

2, 6-ジヒドロキシアントラキノ (アントラフラビン酸)

1, 5-ジヒドロキシアントラキノ (アントラルフィン)

3-アミノピリジン (ニコチンアミド)

ピリジン-3-カルボン酸 (ニコチン酸)

モーダントイエロー1、アリザリンイエローGG, CI 14025

クマジーブルーグレー、アシドブラック48, CI 65005

バランチンファストブラックWAN、アンドブラック52, CI 15711

バランチンクロムブラック6BN, CI 15705、エリオクロムブルーブラッスR

モルダンドブラック11、エリオクロムブラックT

ナフトールブルーブラック、アシドブラック1, CI 20470

1, 4-ジヒドロキシアントラキノ (キニザリン)

4-ヒドロキシクマリン

ウンベリフェロン、7-ヒドロキシクマリン

エスクレチン 6, 7-ジヒドロキシクマリン

クマリン

クロモトロープ2Bアシドレッド176, CI 1657

クロモトロープ2Bアシドレッド29, CI 16570

クロモトロープFBアシドレッド14, CI 14720

2, 6-ジヒドロキシイソニコチン酸、シトラジニン酸

2, 5-ジクロロアニリン

2-アミノ-4-クロロトルエン

2-ニトロ-4-クロロアニリン

2-メトキシ-4-ニトロアニリン及び

p-ブロモフェノール。

本発明の方法により染色する材料は布帛、糸、繊維、衣料又はフィルムである

。好ましくは、この材料は綿、ジアセテート、亜麻、リンネル、リオセル、ポリ
アクリル、ポリアミド（例えばナイロン）、ポリエステル、ラミー、レーヨン、
テンセル又はトリアセテートである。

本発明の方法に利用する、当該材料を含んで成る染色液は水／材料比を約 0.5
：1～約 200：1、好ましくは約 5：1～約 20：1 の範囲で有しうる。

本発明の方法に従うと、当該 1 又は複数種の単環、二環又は多環式芳香族又は
ヘテロ芳香族化合物は、(a) 過酸化水素源及びペルオキシダーゼ活性を発揮す
る酵素、又は (b) 1 もしくは複数種の

単環、二環もしくは多環式芳香族もしくはヘテロ芳香族化合物、例えばフェノー
ル及び近縁物質に対してオキシダーゼ活性を発揮する酵素により酸化されうる。
ペルオキシダーゼ活性を発揮する酵素には、限定することなく、ペルオキシダー
ゼ (EC 1. 11. 1. 7) 及びハロペルオキシダーゼ、例えばクロロ (EC 1. 11.
1. 10)、プロモ (EC 1. 11. 1) 及びヨードペルオキシダーゼ (EC 1. 11. 1
. 8) が含まれる。オキシダーゼ活性を発揮する酵素には、限定することなく、
ビリルビンオキシダーゼ (EC 1. 3. 3. 5)、カテコールオキシダーゼ (EC 1
. 10. 3. 1)、ラッカーゼ (EC 1. 10. 3. 2)、*o*-アミノフェノールオキ
シダーゼ (EC 1. 10. 3. 4) 及びポリフェノールオキシダーゼ (EC 1. 10. 3
. 2) が含まれる。これらの酵素の活性を決定するためのアッセイは当業者に周
知である。

好ましくは、この酵素はアスペルギルス (*Aspergillus*)、ボツリチス (*Botryti
s*)、コリビア (*Collybia*)、ホメス (*Fomes*)、レンチヌス (*Lentinus*)、ミセリ
オフソラ (*Myceliophthora*)、ニューロスボラ (*Neurospora*)、プレウロトウス
(*Pleurotus*)、ポドスボラ (*Podospora*)、ポリポルス (*Polyporus*)、シタリジウム (*Scytalidium*)、トラメテス (*Trametes*) 及びリゾクトニア (*Rhizoctonia*) より成
る群から選ばれる属より得られるラッカーゼである。より好適な態様において、
このラッカーゼはスミコラ・ブレビス・バー・サーモイデア (*Humicola brevis v
ar. thermoidea*)、フミコラ・ブレビスボラ (*H. brevispora*)、フミコラ・グリセ
ア・バー・サーモイデア (*H. grisea var. thermoidea*)、フミコラ・インソレン

ス(*H. insolens*)及びフミコラ・ラヌギノサ(*H. lanuginosa*) (サーモマイセス・ラヌギノサス(*Thermomyces lanuginosus*)としても知られる)、ミセリオフソラ・サーモフィラ(*M. thermophila*)、ミセ

リオフソラ・ベレレア(*M. vellerea*)、ポリボルス・ピンシトゥス(*P. pinsitus*)、シタリジウム・サーモフィラ(*S. thermophila*)、シタリジウム・インドネシアカム(*S. indonesiacum*)及びトルラ・サーモフィラ(*Torula thermophila*)より成る群から選ばれる種より獲得される。このラッカーゼはその他のシタリジウムの種、例えばシタリジウム・アシドフィルム(*S. acidophilum*)、シタリジウム・アルBUM(*S. album*)、シタリジウム・オーランチアカム(*S. aurantiacum*)、シタリジウム・サーシナトゥム(*S. circinatum*)、シタリジウム・フラベオブランネウム(*S. flaveobrunneum*)、シタリジウム・ヒアリヌム(*S. hyalinum*)、シタリジウム・リグニコラ(*S. lignicola*)及びシタリジウム・ウレジニコルム(*S. uredinicolum*)より得られうる。ラッカーゼはその他のポリボルスの種、例えばポリボルス・ゾナトゥス(*P. zonatus*)、ポリボルス・アルベオラリス(*P. alveolaris*)、ポリボルス・アルキュラリウス(*P. arcularius*)、ポリボルス・オーストラリエンシス(*P. australiensis*)、ポリボルス・バジウス(*P. badius*)、ポリボルス・ピフォルミス(*P. biformis*)、ポリボルス・ブルマリス(*P. brumalis*)、ポリボルス・シリアトゥス(*P. ciliatus*)、ポリボルス・コレンソイ(*P. colensoi*)、ポリボルス・ユーカリプトルム(*P. eucalyptorum*)、ポリボルス・メリジオナリス(*P. meridionalis*)、ポリボルス・バリウス(*P. varius*)、ポリボルス・バルストリス(*P. palustris*)、ポリボルス・リゾフィルス(*P. rhizophilus*)、ポリボルス・ルグロサス(*P. rugulosus*)、ポリボルス・スカモサス(*S. squamosus*)、ポリボルス・トウベラスター(*P. tuberaster*)及びポリボルス・トゥムロサス(*P. tumulosus*)より得られうる。ラッカーゼはその他のリゾクトニアの種、例えばリゾクトニア・ソラニ(*R. solani*)より得られうる。ラッカーゼはI型(T1)銅部位に

おける少なくとも1個のアミノ酸残基による修飾ラッカーゼであってもよく、こ

こでかかる修飾オキシダーゼは野生型オキシダーゼと比べ、改変されたpH及び／又は比活性を有する。例えば、修飾ラッカーゼはT1銅部位のセグメント(a)において修飾されていてよい。

本目的のために採用されうるペルオキシダーゼは植物(例えば西洋ワサビペルオキシダーゼ)又は微生物、例えば真菌もしくは細菌より単離又は生産されうる。一部の好適な真菌には亜門不完全菌類(Deuteromycotina)、綱ヒホケミス類(Hyphomycetes)、例えばフサリウム(*Fusarium*)、フミコラ、トリコデルマ(*Trichoderma*)、ミロセシウム(*Myrothecium*)、バーチシルム(*verticillium*)、アルソロマイセス(*Arthromyces*)、カルダリオマイセス(*Caldariomyces*)、ウロクラジウム(*Ulocladium*)、アンベリッシア(*Embellisia*)、クラドスポリウム(*Cladosporium*)又はドレシュレラ(*Dreschlera*)、特にフサリウム・オキシスポルム(*F. oxysporum*) (DSM 2672)、フミコラ・インソレンス、トリコデルマ・レシー(*T. resii*)、ミロセシウム・ベルカナ(*M. verrucana*) (IFO 6113)、バーチシルム・アルボアトルム(*V. alboatrum*)、バーチシルム・ダリー(*V. dahliae*)、アルソロマイセス・ラモサス(*A. ramosus*) (FERMP-7754)、カルダリオマイセス・フマゴ(*C. fumago*)、ウロクラジウム・チャータルム(*U. chartarum*)、アンベリッシア・アリ(*E. alli*)又はドレシュレラ・ハロデス(*D. halodes*)に属する株が含まれる。

その他の好適な真菌には、亜門担子菌類(Basidiomycetes)、綱担子菌類、例えばコプリヌス(*Coprinus*)、フェネロシェラ(*Phanerochaete*)、コリオルス(*Coriolus*)又はトラメテス(*Trametes*)、特にコプリヌス・シネレウス f. ミクロスポルス(*C. cinereus*

f. *microsporus*) (IFO 8371)、コプリヌス・マクロリザス(*C. macrorhizus*)、フェネロシェラ・クリソスポリウム(*P. chrysosporium*) (例えばNA-12)又はコリオルス・バーシカラー(*Coriolus versicolor*) (例えばPR4 28-A)に属する株が含まれる。

更に好適な真菌には接合菌亜門(*Zygomycotina*)、マイコラセア(*Mycoraceae*)綱、例えばリゾプス(*Rhizopus*)又はムコー(*Mucor*)、特にムコー・ヒエマリ

ス (*M. hiemalis*) に属する株が含まれる。

一部の好適な細菌にはアクチノマイセタレス目 (*Actinomycetales*)、例えばストレプトマイセス・スフェロイデス (*Streptomyces spheroides*) (ATCC 23965)、ストレプトマイセス・サーモビオラセウス (*S. thermoviolaceus*) (IFO 12382) 又はストレプトバーチシルム・バーチシリウム種バーチシリウム (*Streptovorticillum verticillum* ssp. *verticillium*) の株が含まれる。

その他の好適な細菌にはバチルス・プミルス (*Bacillus pumilus*) (ATCC 12905)、バチルス・ステアロサーモフィルス (*B. stearothermophilus*)、ロドバクター・スフェロイデス (*Rhodobactersphaeroides*)、ロドモナス・パルストリ (*R. palustri*)、ストレプトコッカス・ラクチス (*Streptococcus lactis*)、シュードモナス・プロシニア (*Pseudomonas putrefaciens*) (ATCC 15958) 又はシュードモナス・フルオレセンス (*P. fluorescens*) (NRRL B-11) が含まれる。

ペルオキシダーゼのその他の潜在的な起源は B. C. Saunders ら、前掲、pp. 41-43 は列挙されている。

本発明に従って利用される酵素を製造する方法は当業界において発光されており、例えば下記のものに記載されている：FEBS Letters 1625, 173 (1), Applied and Environmental Microbiology, Fe

b. 1985, pp. 273-278; Applied Microbiol. Biotechnol. 26, 1987, pp. 158-163, Biotechnology Letters 9(5), 1987, pp. 357-360; Nature 326, 2 April 1987, FEBS Letters 4270, 209 (2), p. 321; EP 179 486; EP 200 565; GB 2 167 421; EP 171 074 及び Agric. Biol. Chem. 50 (1), 1986, p. 247。

特に好適な酵素は約 2.5～約 12.0 の範囲、好ましくは約 4～約 10 の範囲、最も好ましくは約 4.0～約 7.0 の範囲、及び約 7.0～約 10.0 の範囲である。かかる酵素は例えば R. E. Childs and W. G. Bardsley, Biochem. J. 145, 1975, pp. 93-103 に記載の ABTS アッセイを利用して好アルカリ性微生物による関連の酵素生産についてスクリーニングすることにより単離し得る。

その他の好適な酵素は良好な熱安定性及び汎用の染色助剤、例えば非イオン、カチオン又はアニオン界面活性剤、錯形成剤、塩、ポリマー等に対する良好な安

定性を発揮するものである。

当該酵素はそれをコードするDNA 配列及びその酵素をコードするDNA 配列の発現を可能にする機能をコードするDNA 配列を担持する組換えDNA ベクターで形質転換された宿主細胞を、当該酵素の発現を可能とする条件下で培養培地の中で培養し、そして当該酵素を培養物から回収することを含んで成る方法によっても製造し得る。

当該酵素をコードするDNA フラグメントは例えば注目の酵素を生産する微生物、例えば上記の微生物のいずれかのcDNA又はゲノムライブラリーを樹立し、次いで当該酵素の全部又は部分アミノ酸配列に基づいて合成したオリゴヌクレオチドプローブに対するハイブリダイゼーションの如き慣用の手順により陽性クローンをスクリーニングすることにより、又は天然酵素に対する抗体と反応性であるタンパク質を産生するクローンを選別することにより単離し得る。

選定できたら、このDNA 配列を適当な複製式発現ベクターであっ

て当該酵素が特定の宿主生物内で発現されるようにする適当なプロモーター、オペレーター及びターミネーター配列、並びに注目の宿主生物においてこのベクターが複製されるようにする複製起点を含んで成るものに挿入してよい。

得られる発現ベクターを次に適当な宿主細胞、例えば真菌細胞に形質転換せしめてよく、その好適な例はアスペルギルス種、最も好ましくはアスペルギルス・オリザ (*A. oryzae*) 又はアスペルギルス・ニガー (*A. niger*) である。真菌細胞は公知の手段によるプロトプラストの形成及びプロトプラストの形質転換、それに続く細胞壁の再生を包含する工程により形質転換されうる。宿主微生物としてのアスペルギルスの利用は、その内容を引用することで本明細書に組入れるEP 238,023 (Novo Industri A/S) に記載されている。

他方、宿主生物は細菌、特にストレプトマイセス、バチルス又は *E. coli* (*E. coli*) の株であってよい。細菌細胞の形質転換は慣用の方法、例えば T. Maniatis ら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, 1982 に記載の通りに実施してよい。

適当なDNA 配列のスクリーニング及びベクターの構築は標準の手順によっても

実施してよい。T. Maniatis ら、前掲参照のこと。

形質転換した宿主細胞を培養するのに用いる培地は注目の宿主細胞を増殖するのに適当な任意の慣用の培地であってよい。発現酵素は好都合には培養培地に分泌させ、そして遠心分離又は濾過により細胞を培地から分離し、培地のタンパク質性成分を塩、例えば硫酸アンモニウムにより沈殿させ、次いでクロマトグラフィー手順、例えばイオン交換クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー等にかけることを含む公知の手順により培養培地から回収し得る。

本発明において利用する酵素がペルオキシダーゼであるとき、過酸化水素源、例えば過酸化水素自体を使用しなければならない。過酸化水素源は当該方法の始めに又は最中に、例えば 0.001～5 mM、特に 0.01～1 mM の量で加えてよい。

過酸化水素の一の起源には過酸化水素の前駆体、例えば過硼酸塩又は過炭酸塩が含まれる。過酸化水素のその他の起源には分子酸素及び有機又は無機基質を過酸化水素及び酸化基質のそれぞれへと変換することのできる酵素が含まれる。これらの酵素は低レベルの過酸化水素しか生成しないが、本発明の方法においてかなり好都合に採用されることができ、なぜならペルオキシダーゼの存在は生成される過酸化水素の有効利用を確実にするからである。過酸化水素を生成できる酵素の例には、限定することなく、グルコースオキシダーゼ、ウレートオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ、アルコールオキシダーゼ、アミンオキシダーゼ、アミノ酸オキシダーゼ及びコレステロールオキシダーゼが含まれる。

本発明の方法において、約 5～約 120℃ の範囲、好ましくは約 5～約 80℃ の範囲、そしてより好ましくは約 15～約 70℃ の範囲の温度、及び約 2.5～約 12 の範囲、好ましくは約 4～約 10 の範囲、より好ましくは約 4.0～約 7.0 又は約 7.0～約 10.0 の範囲の pH が利用されうる。好ましくは、酵素の至適温度及び pH 付近の温度及び pH のそれぞれが利用される。

本発明の方法において利用される染色剤は更に、一価又は二価イオン、例えば限定することなくナトリウム、カリウム、カルシウム及びマグネシウムイオン（0～3 M、好ましくは 25 mM～1 M）、ポリマー、例えば限定することなくポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、ポリアスパルテート、ポリビニルアミ

ド、ポリエチレンオキシド (0 ~ 50 g / l 、好ましくは 1 ~ 500 mg / l) 、並び

に界面活性剤 (10mg ~ 5 g / l) を含んで成りうる。

かかる界面活性剤の例はアニオン界面活性剤、例えばカルボキシレート、例えば長鎖脂肪酸の金属カルボキシレート；N-アシルサルコシネート；リン酸と脂肪アルコールエトキシレートとのモノ-もしくはジエステル又はかかるエステルの塩；脂肪アルコールスルフェート、例えばドデシル硫酸ナトリウム、オクタデシル硫酸ナトリウム又はセチル硫酸ナトリウム；エトキシ化脂肪アルコールスルフェート；エトキシ化アルキルフェノールスルフェート；リグニンスルホネート；石油スルホネート；アルキルアリールスルホネート、例えばアルキルベンゼンスルホネート又は低級アルキルナフタレンスルホネート、例えばブチルナフタレンスルホネート；スルホン化ナフタレン-ホルムアルデヒド縮合物の塩；スルホン化フェノール-ホルムアルデヒド縮合物の塩；又はより複雑なスルホネート、例えばアミドスルホネート、例えばオレイン酸とN-メチルタウリンとのスルホン化縮合生成物又はジアルキルスルホスクシネート、例えばスルホン酸ナトリウム又はコハク酸ジオクチルである。かかる界面活性剤の例は非イオン性界面活性剤、例えば脂肪酸エステル、脂肪アルコール、脂肪酸アミド又は脂肪アルキル又はアルケニル置換化フェノールとエチレンオキシドとの縮合生成物、エチレンオキシド及びプロピレンオキシドのブロックコポリマー、アセチレン系グリコール、例えば 2, 4, 7, 9-テトラエチル-5-デシン-4, 7-ジオール、又はエトキシ化アセチレン系グリコールである。かかる界面活性剤の更なる例はカチオン界面活性剤、例えば脂肪族モノ-、ジ-又はポリアミン、例えばアセテート、ナフタレネート又はオレエート；酸素含有アミン、例えばポリオキシエチレンアルキルアミンのアミノオキシド；カルボン酸とジ-又はポリアミンとの縮合により調製されるアミド連結アミン；又は第四級

アンモニウム塩である。

好適な態様において、当該材料をまず 1 又は複数種の単環、二環又は多環式芳香族又はヘテロ芳香族化合物を含んで成る水性溶液に浸し、次いでその浸漬材料

を当該酵素で処理する。

別の好適な態様においては、当該染色剤は更にペルオキシダーゼ活性を発揮する酵素又はオキシダーゼ活性を発揮する酵素の活性を高める試薬を含んで成る。かかる増強剤は当業界において周知である。例えば、W095/01426号に開示されている有機化学化合物がラッカーゼの活性を高めることで知られる。更に、W094/12619及びW094/12621に開示の化学化合物はペルオキシダーゼの活性を高めることで知られる。

本発明を以下の非限定例により更に説明する。

実施例

例 1

ラッカーゼ活性の決定

ラッカーゼ活性は好気性条件下でのシリンガルダジンの酸化により決定した。生成する紫色を光度計により 530nmで測定した。分析条件は19 μ Mのシリンガルダジン、23.2mMのアセテートバッファー、pH5.5、30℃及び1分の反応時間とした。1ラッカーゼ単位 (LACU) はこれらの条件で1分当たり1 μ moleのシリンガルダジンの変換を触媒するラッカーゼの量である。

ペルオキシダーゼ活性の決定

1ペルオキシダーゼ単位 (POXU) は下記の分析条件で1分当たり1 μ molの過酸化水素の変換を触媒する酵素の量である：0.88mMの過酸化水素、1.67mMの2, 2'-アジノビス (3-エチルベンゾチアゾリン-6-スルホネート)、0.1Mのリン酸バッファー (Triton

X405 含有 (1.5g / 1000ml))、pH7.0 ; 30℃でのインキュベーション ; 418nmで光学的に追跡 (ABTSの励起係数は 3.61 / mmol \cdot mmに設定)。

布帛の染色

5mgの第一化合物 (p-フェニレンジアミン (「A」)、p-トルエンジアミン (「B」) 又はo-アミノフェノール (「C」)) 及び5mgの第二化合物 (m-フェニレンジアミン (「D」)、 α -ナフトール (「E」) 又は4-クロロレスルシノール (「F」)) (又は第二化合物抜きの実験においては10mgの第一化合

物) を10mlの0.1Mの K_2HPO_4 , pH7.0 バッファーに溶かした。71.7LACU/mlの活性を有するポリボルス・ピンシトゥスラッカーゼ (「PpL」) (Centraal Bureau voor Schimmelcultures に寄託、受託番号CBS 678.70) 又は 690LACU/mlの活性を有するミセリオフソラ・サーモフィラ (「MtL」) (Centraal Bureau voor Schimmelcultures に寄託、受託番号CBS 117.65) を同バッファーの中に10LACU/mlの活性へと希釈した。

Test Fabrics Inc. (Middlesex, New Jersey) より入手した多繊維見本スタイル10A (4×10cm) を巻き、そして試験管に入れた。この見本は綿、ジアセテート、ポリアクリル、ポリアミド及びポリエステル製の異なる繊維のストリップを含む。4.5mlの前駆体/カップラー溶液及び1mlのラッカーゼ溶液をこの試験管に加えた。試験管に封をし、混合し、そして試験管シェーカーに載せ、そして暗所キャビネットの中で60分インキュベーションした。インキュベーション後、見本を流温水道水で約30秒すすいだ。

その実験の結果を下記の表にまとめる：

表 1

布 帛	A のみ	A + D	A + E	A + F
ジアセテート	強い 黄色 / 橙色	青色	強い 赤紫色	強い 橙色
綿	灰青色	灰色	灰色	灰色
ポリエステル	灰色	灰色	灰色	灰色
ポリアクリル	灰色	灰色	灰色	灰色
ポリアミド	灰色	青色	強い紫色	灰青色

表 2

布 帛	B のみ	B + D	B + E	B + F
ジアセテート	強い 赤色 / 橙色	強い青色	強い紫色	強い 黄色 / 橙色
綿	灰赤色	灰青色	灰色	灰色
ポリエステル	灰色 / 橙色	灰色	灰色	灰色
ポリアクリル	灰色 / 橙色	灰色	灰色	灰色
ポリアミド	橙色 / 赤色	青色	強い紫色	灰黄色

表 3

布 帛	C のみ	C + D	C + E	C + F
ジアセテート	強い黄色	強い黄色	強い橙色	強い 黄色 / 橙色
綿	淡い黄色	淡い黄色	淡い黄色	灰色 / 黄色
ポリエステル	淡い灰色	淡い灰色	灰色	灰色
ポリアクリル	淡い灰色	淡い灰色	灰色	灰色
ポリアミド	強い 橙色 / 赤色	強い 橙色 / 赤色	強い橙色	強い 橙色 / 赤色

これらの結果は、前駆体及びポリボルス・ピンシトゥスラッカーゼの存在下で、ジアセテート及びポリアミドが強い色相で染色され、一方ポリアクリル、ポリエステル及び綿は淡い色相で染色されることを示す。類似の結果がミセリオフソラ・サーモフィララッカーゼより得られる。

例 2

様々な材料をAtlas Launder-O-Meter(「LOM」)で30℃で1時間、4～10の範囲のpHにおいて染色した。染色した材料(全てTest Fabrics Inc. より入手)はジアセテート(スタイル 122, 5 cm×5 cm)、ナイロン6(スタイル 322, 5 cm×5 cm)、ナイロン6.6(スタイル 361, 5 cm×5 cm)、トリアセテート(スタイル 116, 5 cm×5 cm)、綿(スタイル400, 5 cm×5 cm)及びシルケット加工綿(スタイル 400M, 5 cm×5 cm)とした。

0.1MのBritten-Robinsonバッファー溶液を、溶液A(0.1Mの H_3PO_4 , 0.1Mの CH_3COOH , 0.1Mの H_3BO_3)とB(0.5Mの $NaOH$)とを適当なpHで混合することにより調製した。pH4, 5, 6, 7, 8, 9及び10のバッファー溶液を作るため、806ml, 742ml, 706ml, 656ml,

624ml, 596ml及び 562mlの溶液Aそれぞれを溶液Bで1リットルへと希釈した。

75mlづつのバッファー溶液にp-フェニレンジアミン、o-アミノフェノール及びm-フェニレンジアミンより選ばれる0.5mg/mlの化合物を加えた。pHを検定し、そして必要なら調整した。75mlのバッファー/化合物溶液を組合せ 150mlづつのバッファー/化合物組合せ溶液を作り、それをLOM ビーカーに加えた。

材料の見本を各バッファー/化合物組合せ溶液に浸した。添加するラッカーゼの容量に相当する容量を抜き取った。690LACU/mlの活性を有するミセリオフソラ・サーモフィラ・ラッカーゼ(「MtL」)をバッファー溶液で希釈して 300LACU/mlの活性にした。pH7.0を除き、各pHにつき2LACU/mlを添加した。pH7.0では0, 1, 2, 4LACU/mlを投与プロフィールのために添加した。次いでLOMビーカーをLOMの上に載せた。42RPM及び30℃で1時間後、LOMを停止させた。液を注ぎ出し、そして見本をビーカーの中で脱イオン流水で約15分すすいだ。見本を乾かし、そしてCIELAB値をColor Eye 7000装置を用いて測定した。CIELABの

結果を表 4 ～ 7 に示す。

表 4

前駆体 p-フェニレンジアミン及び m-フェニレンジアミンによる染色

(pH-プロフィール、2 LACU/ml)

		pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8	pH 9	pH 10
綿	L*	31.35	23.99	27.99	34.02	64.16	74.9	42.45
	a*	10.96	5.95	6.89	6.14	2.01	1.27	4.7
	b*	4.95	7.53	7.01	1.44	-8.62	-6	-5.65
シルケット加工綿	L*	29.02	29.11	28.1	35.15	64.63	71.1	44.21
	a*	13.41	12.88	6.64	5.97	1.55	0.9	3.96
	b*	8.03	7.56	7.24	0.55	-7.03	-6.84	-3.11
ヴァセート	L*	39.45	32.05	28.24	25.5	31.02	45.58	22.96
	a*	2.52	2.36	2.52	3.38	5.27	4.45	4.06
	b*	-3.07	-3.82	-7.91	-11.1	-14.43	-6.53	-10.58
ナイロン 6	L*	55.93	48.58	45.77	36.2	35.7	42.49	32.29
	a*	2.94	2.3	-0.71	-1.55	1.7	0.47	1.15
	b*	0.31	1.8	-5.06	-18.65	-28.18	-28.81	-25.11
ナイロン 6.6	L*	47.11	39.61	35.12	27.92	32.79	39.75	26.46
	a*	3.11	2.65	0.32	-0.58	1.82	0.59	1.3
	b*	0.89	2.36	-3.73	-15.04	-26.17	-25.78	-21.27
トリアセート	L*	64.17	53.17	52.87	53.91	67.24	72.57	59.08
	a*	4.4	5.55	5.26	4.84	3.25	2.48	3.95
	b*	0.73	2.9	2.5	-0.7	-6.55	-2.25	-6.68

表 5

前駆体 p-フェニレンジアミン及び m-フェニレンジアミンによる染色

(投与プロフィール - pH 7)

		0 LACU	1 LACU	4 LACU
綿	L*	78.65	36.72	32.73
	a*	1.45	6.24	6.38
	b*	1.49	0.48	2.24
シルカット加工綿	L*	77.74	37.34	34.15
	a*	1.36	5.89	6.58
	b*	1.79	-0.65	1.6
ジアセテート	L*	57.32	26.21	24.78
	a*	2.07	3.62	3.24
	b*	-1.85	-12.44	-10.1
ナイロン 6	L*	66.27	36.55	35.59
	a*	0.92	-1.18	-1.66
	b*	-4.69	-20.74	-16.68
ナイロン 6.6	L*	61.37	28.93	27.02
	a*	1.4	-0.52	-0.63
	b*	-4.07	-16.68	-13.26
トリアセテート	L*	75.68	56.01	51.16
	a*	1.87	4.65	4.85
	b*	3	-2.54	-1.49

表 6

前駆体 o-アミノフェノール及び m-フェニレンジアミンによる染色

(pH-プロフィール, 2 LACU/ml)

		pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8	pH 9	pH 10
綿	L*	21.6	26.83	36.75	44.64	49.53	79.1	74.84
	a*	2.56	2.85	3.85	4.22	3.76	4.08	7.45
	b*	5.33	6.89	11.37	13.34	8.74	19.56	25.31
シルケット加工綿	L*	27.89	27.22	44.1	45.18	53.4	79.4	75.27
	a*	2.17	2.69	2.1	4.02	4.77	3.69	7.56
	b*	4.79	6.92	8.64	13.38	1.97	19.22	25.27
ジアセート	L*	35.6	33.59	36.47	37.78	45.78	62.9	57.42
	a*	3.6	4.12	8.47	10.47	10.11	6.59	7.06
	b*	10.36	13.65	22.21	27.16	32.99	37.21	37.8
ナイロン 6	L*	43.42	44.93	47.57	47.52	52.25	64.09	60.9
	a*	2.84	3.68	8.01	9.8	8.4	10.09	9.29
	b*	8.51	12.32	22.52	25.94	27.31	34.18	32.24
ナイロン 6.6	L*	36.77	34.57	36.26	37	43.69	55.9	52.68
	a*	3.08	3.71	7.63	11.22	12.38	16.31	17.05
	b*	9.43	11.35	19.14	23.86	29.68	37.83	37.52
トリアセート	L*	39.02	40.38	48.7	51.8	59.23	68.95	69.74
	a*	3.1	3.56	4.8	5	3.96	7.15	5.73
	b*	7.92	9.83	18.94	24.89	27.7	40.73	37.62

表 7

前駆体 o-アミノフェノール及び m-フェニレンジアミンによる染色

(投与プロフィール - pH 7)

		0 LACU	1 LACU	4 LACU
綿	L*	86.79	46.58	44.66
	a*	0.08	3.91	4.12
	b*	10.05	13.12	12.31
シルケット加工綿	L*	86.25	49.91	49.32
	a*	0.16	2.86	3.08
	b*	8.22	10.94	7.18
ジアセテート	L*	76.33	40.46	37.43
	a*	1.76	9.8	11.78
	b*	21.99	28.08	27.66
ナイロン 6	L*	82.6	49.91	46.77
	a*	0.31	10.07	9.56
	b*	14.72	27.48	25.13
ナイロン 6.6	L*	77.4	38.87	37.5
	a*	2.42	11.83	12.44
	b*	18.4	25.88	24.88
トリアセテート	L*	77.02	54.5	49.23
	a*	3.54	5.35	5.19
	b*	19.62	28.23	23.54

表の中に用いているパラメーター「L'」、「a'」及び「b'」は色彩を定量化するために用いており、そして色彩科学の当業者に公知である。例えば、Bill meyer & Saltzman, Principles of Color Technology, 第2版、John Wiley & Sons, New York, 1981, p. 59を参照のこと。

これらの結果は、綿及びシルケット加工綿がpH6未満で観察される強い色彩をもって低pHの双方の化合物組合せにより染色されたこ

とを示す。ジアセテートは全pHで染色され、p-フェニレンジアミンとm-フェニレンジアミンとの組合せは低pHでの灰色から高pHでのマリンプルーに至る範囲の色彩を供し、そしてo-アミノフェノールとm-フェニレンジアミンとの組合せは暗褐色から橙色／黄色に至る範囲の色彩を供した。ナイロン6は全pHで染色され、p-フェニレンジアミンとm-フェニレンジアミンとの組合せでは6より高いpHで強い青色の色相となり、そして低めのpHでは灰色の色相となった。o-

アミノフェノールとm-フェニレンジアミンとの組合せは6より高いpHでベージュ色を供し、低めのpHでは灰色の色相を供した。ナイロン 6.6はナイロン6と同じように染色されたが、全pHでより強い色相となった。トリアセテートはp-フェニレンジアミンとm-フェニレンジアミンとの組合せにより有意に染色されなかったが、o-アミノフェノールとm-フェニレンジアミンとの組合せにより低めのpHで若干茶色からベージュ色に発色した。

全ての投与量実験において、1, 2又は4 LACU/mlの投与量では明確な差はなかった。0 LACU/mlによるコントロール実験は染色がラッカーゼにより触媒されることを明示した。

例 3

染色のための時間プロフィールを例2記載の手順を利用して決定したが、ただし実験はpH5.0及び8.0のみで0, 5, 15, 35及び55分の時間間隔で実施した。各実験において、2 LACU/mlのミセリオフソラ・サーモフィララッカーゼを加えた。その結果を表8～11に示す。

表 8

前駆体 p-フェニレンジアミン及びm-フェニレンジアミンによる染色

時間プロフィール, 2 LACU/ml, pH 5

		0 min	5 min	15 min	35 min	55 min
綿	L*	54.68	32.54	36.94	27.88	28.91
	a*	2.16	2.79	2.84	2.75	2.69
	b*	8.26	7.93	8.67	7.06	7.23
シルク加工綿	L*	79.56	56.58	41.97	29.12	27.36
	a*	1.97	7.72	12.06	12.77	11.15
	b*	0.62	10.2	11.02	10.65	9.4
アセテート	L*	78.96	50.08	38.79	30.89	30.77
	a*	0.1	1.06	1.62	1.87	1.96
	b*	1.69	-6.35	-5.22	-3.71	-3.81
ナイロン6	L*	86.15	73.4	59.07	48.45	47.61
	a*	-0.54	-0.07	0.79	2.96	3.04
	b*	1.96	0.5	1.98	4.32	3.89
ナイロン 6.6	L*	84.26	67.05	52.34	41.07	39.38
	a*	-1.12	0.19	1.23	3.16	3.21
	b*	0.54	0.49	3.51	4.96	4.14
トリアセテート	L*	86.27	80.68	69.35	54.88	52.79
	a*	0.99	1.83	3.28	5.61	5.49
	b*	3.46	4.99	2.05	4.8	5.07

表 9

前駆体 p-フェニレンジアミン及び m-フェニレンジアミンによる染色

時間プロフィール, 2 LACU/ml, pH 8

		0 min	5 min	15 min	35 min	55 min
綿	L*	79.54	57.37	48	46.03	44.07
	a*	0.39	2.57	3.53	4.18	4.57
	b*	-3.66	-6.57	-6.25	-3.98	-3.18
シルケット加工綿	L*	77.4	62.14	52.8	49.77	48.64
	a*	0.43	2.85	3.68	4.68	4.79
	b*	-0.96	-4.16	-4.04	-2.29	0.01
ジリセート	L*	72.72	31.72	24.53	22.6	22.91
	a*	-0.24	4.65	4.71	4.29	3.6
	b*	-8.41	-19.15	-14.73	-11.97	-12.11
ナイロン6	L*	64.65	53.49	39.32	37.64	33.14
	a*	-3.28	-2.23	-0.58	-0.35	0.06
	b*	-16.61	-20.1	-23.66	-23.99	-23.75
ナイロン 6.6	L*	61.83	43.78	33.61	29.96	27.21
	a*	-2.03	-0.89	0.05	0.25	0.35
	b*	-17.12	-21.06	-21.5	-20.87	-20.5
トリアセート	L*	83.59	70.82	66.6	66.43	65.41
	a*	0.93	1.58	1.6	1.99	2.88
	b*	3.54	-1.66	-0.64	-1.17	-0.01

表 10

前駆体 o-アミノフェノール及びm-フェニレンジアミンによる染色

時間プロフィール, 2 LACU/ml, pH 5

		0 min	5 min	15 min	35 min	55 min
綿	L*	74.17	55.46	38.63	25.68	23.63
	a*	2.1	7.02	14.76	6.58	5.39
	b*	0.3	7.23	11.76	8.67	7.71
シルク加工綿	L*	86.46	60.02	40.5	34.54	34.19
	a*	0.91	0.89	1.43	1.19	1.56
	b*	6.9	6.56	6.5	4.46	5.15
アセテート	L*	80.72	51.54	36.25	33.63	34.33
	a*	1.21	6.27	6.56	5.76	4.83
	b*	12.63	21.98	18.26	16.13	14.76
ナイロン6	L*	85.97	61.61	47.63	44.22	46.02
	a*	0.13	5.08	5.61	4.71	4.52
	b*	8.21	15.36	13.92	13.06	13.89
ナイロン 6.6	L*	82.27	55.28	39.06	35.9	36.73
	a*	1.34	5.72	5.97	4.91	4.29
	b*	11.84	17.23	14.3	13.13	12.9
トリアセテート	L*	89.33	69.67	50.12	42.38	42.98
	a*	0.35	2.18	5.05	4.26	3.8
	b*	6.37	13.43	12.88	11.24	10.17

表 11

前駆体 o-アミノフェノール及び m-フェニレンジアミンによる染色

時間プロフィール, 2 LACU/ml, pH 8

		0 min	5 min	15 min	35 min	55 min
綿	L*	87.77	75.41	61.59	49.57	48.57
	a*	-0.44	6.2	5.51	4.26	4.08
	b*	13.54	26.92	15.47	9.83	8.31
シルケット加工綿	L*	88	78.8	61.48	50.78	50.5
	a*	-0.4	4.09	6.72	5.07	4.95
	b*	11.59	22.84	15.18	5.37	2.55
ジアセテート	L*	84.64	69.78	51.84	46.03	42.15
	a*	0.24	4.78	11.54	11.14	11.87
	b*	14.06	38.86	39.15	34.67	32.58
ナイロン 6	L*	82.81	69.06	56.09	50.38	50.5
	a*	0.08	6.61	10.18	7.06	7.72
	b*	16.44	29.39	27.89	23.35	26.07
ナイロン 6.6	L*	81.49	61.73	49.21	42.34	41.72
	a*	1.22	11.92	14.82	11.75	11.52
	b*	16.5	33.84	31.26	26.59	27.05
トリアセテート	L*	84.73	79.49	68.57	60.03	60.89
	a*	1.88	2.45	4.87	3.98	4.12
	b*	13.78	21.92	26.33	23.41	24.59

これらの結果は、ほとんどの色が最初の15分以内に形成することを示す。綿及びシルケット加工綿はpH 5で双方の化合物の組合せにより、35分後に強い着色をもって染色された。ジアセテートを双方のpHで染色し、最大の着色は15分後に得られた。ナイロン 6 及びナイロン 6.6は双方のpHで染色され、最大の着色は15分後に得られた。しかしながら、ナイロン 6.6はより強い色相を発色した。トリアセテートはp-フェニレンジアミンとm-フェニレンジアミンとの

組合せによりいづれのpHでも染色されなかったが、o-アミノフェノールとm-フェニレンジアミンとの組合せにより若干着色された。

例 4

染色材料（全てTest Fabrics, Inc.より入手）は綿（スタイル 400, 8 cm×8 cm）、ジアセテート（スタイル 122, 5 cm×6 cm）、ナイロン 6.6（スタイル 361, 6 cm×6 cm）及びナイロン 6（スタイル 322, 6 cm×6 cm）とし、Atlas

Launer-O-Meier(「LOM」)で30℃で1時間、pH5.5で染色した。

0.5mg/mlの第一化合物溶液(p-フェニレンジアミン「A」)及び0.5mg/mlの第二化合物溶液(1-ナフトール「B」)を、これらの化合物を適量の0.1MのCH₃COONa, pH5.5バッファーの中に溶解することにより調製した。100mlの総容量を各LOMビーカーに用いた。100mlの「A」を一個のビーカーに入れ、そして50mlの「A」及び50mlの「B」を第二ビーカーの中で組合せて100mlにした。上記の材料の見本をDI水の中で湿らし、そして前駆体溶液の中に浸した。690LACU/ml(80LACU/mg)の活性を有するミセリオフソラ・サーモフィララッカーゼ(「MiL」)を各ビーカーに12.5mg/lの濃度で加えた。これらのLOMビーカーに封をし、そしてLOMに載せた。42RPM及び30℃で1時間後、LOMを停止させた。消費液を注ぎ出し、そして見本を冷水道水で約15分すすいだ。見本を室温で乾かし、そしてCIELAB値をMacbeth Color-dye 7000を利用して全ての見本について測定した。その結果を表12及び13に示す。

表 12 - 前駆体 p-フェニレンジアミンによる染色

	L *	a *	b *
綿	27.10	76.39	11.20
ナイロン 6.6	42.38	53.76	26.07
ナイロン 6	55.72	68.58	26.37
ジアセテート	33.38	65.07	19.01

表 13 - 前駆体 p-フェニレンジアミン及び 1-ナフトールによる染色

	L *	a *	b *
綿	39.73	70.79	3.34
ナイロン 6.6	30.96	48.94	-6.96
ナイロン 6	39.93	65.81	-7.08
ジアセテート	21.06	66.60	-7.87

これらの結果は、様々なタイプの繊維が前駆体及びミセリオフソラ・サーモフイララッカーゼにより染色されうることを示す（Aでは茶色の色相、そしてA/Bでは紫色の色相）。

例 5

染色材料（全てTest Fabrics, Inc.より入手）は綿（スタイル400, 8 cm×8 cm）、ジアセテート（スタイル122, 5 cm×6 cm）、ナイロン6.6（スタイル361, 6 cm×6 cm）及びナイロン6（スタイル322, 6 cm×6 cm）とし、Atlas Launder-0-Meter（「LOM」）で30℃で1時間、pH5.5で染色した。

0.5mg/mlの第一化合物溶液（p-フェニレンジアミン「A」）及び0.5mg/mlの第二化合物溶液（1-ナフトール「B」）を、これらの化合物を適量の0.1 MのCH₃COONa, pH5.5バッファーの中に

溶解することにより調製した。100mlの総容量を各LOMビーカーに用いた。100mlの「A」を一個のビーカーに入れ、そして50mlの「A」及び50mlの「B」を第二ビーカーの中で組合せて100mlにした。上記の材料の見本をDI水の中で湿らし、そして前駆体溶液の中に浸した。70LACU/ml(100LACU/mg)の活性を有するポリボルス・ピンジトゥスラッカーゼ（「PpL」）を各ビーカーに12.5mg/lの濃度で加えた。これらのLOMビーカーに封をし、そしてLOMに載せた。42RPM及び30℃で1時間後、LOMを停止させた。消費液を注ぎ出し、そして見本を冷水道水で約15分すすいだ。見本を室温で乾かし、そしてCIELAB値をMacbeth Color dye 7000を利用して全ての見本について測定した。その結果を表14及び15に示す。

表 14 - 前駆体 p-フェニレンジアミンによる染色

	L *	a *	b *
綿	35.03	86.23	9.45
ナイロン 6.6	42.27	59.54	27.72
ナイロン 6	58.08	70.91	25.75
ジアセテート	37.60	70.48	22.80

表 15 - 前駆体 p-フェニレンジアミン及び1-ナフトー

ルによる染色

	L *	a *	b *
綿	46.48	74.06	2.93
ナイロン 6.6	38.12	54.12	-1.68
ナイロン 6	49.36	65.94	-4.56
ジアセテート	29.66	68.56	-5.46

これらの結果は、様々なタイプの繊維が前駆体及びポリボルス・

ピンシトゥス(PpL)ラッカーゼにより染色されうることを示す(Aでは茶色の色相、そしてA/Bでは紫色の色相)。

例 6

染色材料(全てTest Fabrics, Inc.より入手)は綿(スタイル400, 8 cm×8 cm)、ジアセテート(スタイル122, 5 cm×6 cm)、ナイロン 6.6(スタイル361, 6 cm×6 cm)及びナイロン6(スタイル322, 6 cm×6 cm)とし、Atlas Launder-O-Meter(「LOM」)で30℃で1時間、pH5.5で染色した。

0.5mg/mlの第一化合物溶液(p-フェニレンジアミン「A」)及び0.5mg/mlの第二化合物溶液(1-ナフトール「B」)を、これらの化合物を適量の0.1MのCH₃COONa, pH5.5バッファーの中に溶解することにより調製した。100mlの総容量を各LOMビーカーに用いた。100mlの「A」を一個のビーカーに入れ、そして50mlの「A」及び50mlの「B」を第二ビーカーの中で組合せて100mlにした。上記の材料の見本をDI水の中で湿らし、そして前駆体溶液の中に浸した。0.04 LACU/mg(1 mg/ml)の活性を有するミロセシウム・ベルカリア(Myrothecium verrucaria)ピリルビンオキシダーゼ(「BiO」)を各ビーカーに12.5mg/lの濃度で加えた。これらのLOMビーカーに封をし、そしてLOMに載せた。42RPM及び30℃で1時間後、LOMを停止させた。消費液を注ぎ出し、そして見本を冷水道水で約15分すすいだ。見本を室温で乾かし、そしてCIELAB値をMacbeth Color dye 7000を利用して全ての見本について測定した。その結果を表16及び17に示す。

表 16 - 前駆体 p-フェニレンジアミンによる染色

	L *	a *	b *
綿	47.48	94.37	9.55
ナイロン 6.6	46.26	79.82	5.70
ナイロン 6	53.70	82.65	1.72
ジアセテート	32.39	85.54	8.94

表 17 - 前駆体 p-フェニレンジアミン及び 1-ナフトールによる染色

	L *	a *	b *
綿	67.47	95.17	-4.24
ナイロン 6.6	42.88	91.04	-25.78
ナイロン 6	49.28	91.17	-25.97
ジアセテート	25.22	103.98	-23.95

これらの結果は、様々なタイプの繊維が前駆体及びピリルビンオキシダーゼにより染色されうることを示す（Aでは茶色の色相、そしてA/Bでは紫色の色相）。

例 7

染色材料（全てTest Fabrics, Inc.より入手）は綿（スタイル 400, 8 cm×8 cm）、ジアセテート（スタイル 122, 5 cm×6 cm）、ナイロン 6.6（スタイル 361, 6 cm×6 cm）及びナイロン 6（スタイル 322, 6 cm×6 cm）とし、Atlas Launder-O-Meter（「LOM」）で30℃で1時間、pH5.5 で染色した。

0.5mg/mlの第一化合物溶液（p-フェニレンジアミン「A」）及び 0.5mg/mlの第二化合物溶液（1-ナフトール「B」）を、これらの化合物を適量の 0.1 MのCH₃COONa, pH5.5 バッファーの中に

溶解することにより調製した。100mlの総容量を各LOM ビーカーに用いた。100 mlの「A」を一個のビーカーに入れ、そして50mlの「A」及び50mlの「B」を第

ニピーカーの中で組合せて 100mlにした。上記の材料の見本をDI水の中で湿らし、そして前駆体溶液の中に浸した。5.2LACU/mg (2 mg/ml) の活性を有するリゾクトニア・ソラニラッカーゼ (「RsL」) を各ピーカーに12.5mg/l の濃度で加えた。これらのLOM ピーカーに封をし、そしてLOM に載せた。42RPM 及び30℃で1時間後、LOM を停止させた。消費液を注ぎ出し、そして見本を冷水道水で約15分すすいだ。見本を室温で乾かし、そしてCIELAB値をMacbeth Color dye 7000 を利用して全ての見本について測定した。その結果を表18及び19に示す。

表 18 - 前駆体 p-フェニレンジアミンによる染色

	L *	a *	b *
綿	50.41	58.97	1.59
ナイロン 6.6	47.73	54.3	12.93
ナイロン 6	53.94	66.74	9.49
ジアセテート	33.38	71.45	10.27

表 19 - 前駆体 p-フェニレンジアミン及び1-ナフトールによる染色

	L *	a *	b *
綿	29.03	63.94	-3.65
ナイロン 6.6	31.91	63.98	-8.10
ナイロン 6	39.41	68.87	-13.38
ジアセテート	17.78	75.03	-8.45

これらの結果は、様々なタイプの繊維が前駆体及びリゾクトニア

・ソラニラッカーゼにより染色されうることを示す (Aでは茶色の色相、そしてA/Bでは紫色の色相)。

例 8

染色材料 (全てTest Fabrics, Inc.より入手) は綿 (Style 400, 8 cm×8 cm) とし、Atlas Launder-O-Meter (「LOM」) の中で60℃及びpH5.5 で染色した。

0.25mg/mlの第一化合物溶液（p-フェニレンジアミン「A」）及び0.25mg/mlの第二化合物溶液（2-アミノフェノール「B」）を、これらの化合物を適量の2g/lのCH₃COONa, pH5.5 バッファーの中に溶解することにより調製した。

100mlの総容量を各LOM ビーカーに用いた。50mlの「A」及び50mlの「B」をLOMビーカーの中で組合せて100mlとした。上記の材料の見本をDI水で濡らし、そして前駆体溶液に浸した。LOM ビーカーに封をし、そしてLOM に載せた。LOM 内で10分のインキュベーション後(42RPM)、LOM を停止し、そして690LACU/ml (80LACU/mg) の活性を有するミセリオフソラ・サーモフィララッカーゼ（「MIL」）をビーカーに1LACU/mlの濃度で加えた。42RPM、60℃で20分後、LOM を止め、サンプルを取り出した。ブレインキュベーション抜きの2つのコントロールをLOM ビーカーに前駆体溶液、見本及び酵素を加えることにより作った。ビーカーをLOM に載せた。42RPM 及び60℃で15分後、1個のビーカーを取り出した。その他のコントロールは42RPM 及び60℃で全部で30分工程にかけ、次いで取り出した。消費液をサンプルから注ぎ出し、そして見本を約15分冷水道水ですすいだ。見本を室温で乾かし、そしてCIELAB値をMacbeth Color Eye 7000を用い全ての見本について測定した。その結果を表20～22に示す。

表 20 - 前駆体 A 及び B で 0 分 / 15 分 染色するコントロール

	L *	a *	b *
綿	51.92	6.35	10.83

表 21 - 前駆体 A 及び B で 0 分 / 30 分 染色するコントロール

	L *	a *	b *
綿	51.05	6.17	11.13

表 22 - 前駆体 A 及び B で 10 分 / 20 分 染色

	L *	a *	b *
綿	49.97	5.81	11.76

これらの見本についての洗濯に対する色彩堅牢度（洗濯堅牢度）をAmerican Association of Textile Chemist and Colorist (AATCC) 試験方法 61-1989, 2 A を利用して評価した。Launder-O-Meter を 49℃ にまで予備加熱し、そして 200ml の 0.2% AATCC 標準対照洗剤 WOB (増白剤なし) 及び 50 個のスチールボールを各 LOM ビーカーの中に入れた。ビーカーに封をし、そして LOM に載せ、そしてビーカーを試験温度に予備加熱するために 42RPM で 2 分工程にかけた。ローターを止め、そしてビーカーを解放した。見本をビーカーに入れ、そして LOM を 45 分運転した。ビーカーを取り出し、そして見本を温水道水で 5 分、時折り絞りながらすすいだ。次いで見本を室温で乾かし、そして Macbeth Color Eye 7000 により評価した。灰色等級（1～5）を AATCC 評価手順 1、変色についての灰色スケールを利用し、各見本に付した。その結果を表 23～25 に示す。

表 23 - 前駆体 A 及び B, 0 分 / 5 分についての洗濯堅牢度結果

	L *	a *	b *	灰色等級
綿	53.63	6.15	10.86	4 - 5

表 24 - 前駆体 A 及び B, 0 分 / 30 分についての洗濯堅牢度試験

	L *	a *	b *	灰色等級
綿	52.95	6.04	10.23	4 - 5

表 25 - 前駆体 A 及び B, 10 分 / 20 分についての洗濯堅牢度試験

	L *	a *	b *	灰色等級
綿	50.40	5.71	9.97	5

これらの結果は、綿が前駆体及びミセリオフソラ・サーモフィラ (MiL) ラッカーゼを利用して染色できうる。L'及び灰色等級の双方から、着色強度及び洗濯堅牢度は見本を前駆体溶液内で酵素の添加前にインキュベーションすることにより改善されることが明らかである。

例 9

綿をAtlas Launder-0-Meter(「LOM」)の中で40℃で1時間、pH5.5で染色した。染色材料(Test Fabrics Inc.)は綿とした(スタイル 400, 8 cm×8 cm)。

この実験においては2種類の媒体を利用し、そしてそれぞれバッファー溶液中に溶かした。3種類のバッファーを作った: 2 g / l のCH₃COONa, pH5.5、バッファー(「1」); 100 μM の10-プロピオン酸フェノチアジン(PPT)を含む 2 g / l のCH₃COONa, pH5.5(「2」); 及び 100 μM のメチルシリリングートを含む 2 g / l のCH₃COONa, pH5.5。

化合物(p-フェニレンジアミン「A」)を適量のバッファー(1, 2又は3)の中に溶解することにより3種類の0.25mg/mlの化合物の溶液を調製した。総容量 120mlを各LOM ビーカー中で用いた。上記の見本をDI水で濡らし、そして前駆体溶液の中に浸した。LOM ビーカーに封をし、そしてLOM に載せた。42RPM 及び40℃で10分後、LOM を停止させた。690LACU/ml (80LACU/mg)の活性を有するミセリオフソラ・サーモフィララッカーゼ(「MiL」)を各ビーカーに 0.174L ACU/mlの活性に至るまで加えた。ビーカーに再び封をし、そしてLOM に載せて50分、40℃で処理した(42RPM)。ビーカーを取り出し、消費液を注ぎ出し、そして見本を冷水道水で約15分すすいだ。見本を室温で乾かし、そしてCIELAB値を全ての見本についてMacbeth Color Eye 7000を用いて測定した。これらの結果を表26, 27及び28に示す。

表 26 - 前駆体 A による染色

(2 g / l CH₃COONa, pH5.5, MtlL)

	L *	a *	b *
綿	47.57	7.39	4.04

表 27 - 前駆体 A による染色

(2 g / l CH₃COONa, pH5.5, 100 μ M PPT, MtlL)

	L *	a *	b *
綿	53.16	6.84	4.01

表 28 - 前駆体 A による染色

(2 g / l CH₃COONa, pH5.5, 100 μ M メチルシリケート、MtlL)

	L *	a *	b *
綿	54.34	8.19	8.68

これらの見本についての洗濯に対する色彩堅牢度（洗濯堅牢度）をAmerican Association of Textile Chemist and Colorist(AATCC)試験方法61-1989, 2 Aを利用して評価した。Launder-O-Meterを49℃にまで予備加熱し、そして200mlの0.2% AATCC標準対照洗剤WOB(増白剤なし)及び50個のスチールボールを各LOMビーカーの中に入れた。ビーカーに封をし、そしてLOMに載せ、そしてビーカーを試験温度に予備加熱するために42RPMで2分工程にかけた。ローターを止め、そしてビーカーを解放した。見本をビーカーに入れ、そしてLOMを45分運転した。ビーカーを取り出し、そして見本を温水道水で5分、時折り絞りながらすすいだ。次いで見本を室温で乾かし、そしてMacbeth Color Eye 7000により評価した。灰色等級（1～5）をAATCC評価手順1、変色についての灰色スケールを利用し、各見本に付した。その結果を表29～31に示す。

表 29 - 前駆体 A についての洗濯堅牢度結果 A

(2 g / l CH₃COONa, pH5.5, MtlL)

	L *	a *	b *	灰色等級
綿	53.08	8.22	5.82	2 - 3

表 30 - 前駆体 A についての洗濯堅牢度結果 A

(2 g / 1 CH₃COONa, pH5.5, 100 μ M PPT, MtL)

	L *	a *	b *	灰色等級
綿	55.64	7.52	5.58	4

表 31 - 前駆体 A についての洗濯堅牢度結果 A

(2 g / 1 CH₃COONa, pH5.5, 100 μ M メチルシリケート、MtL)

	L *	a *	b *	灰色等級
綿	57.83	8.47	9.13	3

同じ実験を繰り返したが、ただし第二化合物 (2 - アミノフェノール「B」)
及び第三化合物 (m - フェニレンジアミン「C」) を使用した。利用した温度は
70℃とした。その結果を表32～37に示す。

表 32 - 前駆体 B 及び C による染色

(2 g / 1 CH₃COONa, pH5.5, MtL)

	L *	a *	b *
綿	56.32	0.36	-3.80

表 33 - 前駆体 B 及び C による染色

(2 g / 1 CH₃COONa, pH5.5, 100 μ M PPT, MtL)

	L *	a *	b *
綿	56.04	1.01	-1.34

表 34 - 前駆体 B 及び C による染色

(2 g / 1 CH₃COONa, pH5.5, 100 μ M メチルシリリングート、MtL)

	L *	a *	b *
綿	54.09	2.44	4.82

表 35 - 前駆体 B 及び C についての洗濯堅牢度の結果

(2 g / 1 CH₃COONa, pH5.5, MtL)

	L *	a *	b *	灰色等級
綿	58.20	0.75	-1.69	4 - 5

表 36 - 前駆体 B 及び C についての洗濯堅牢度の結果

(2 g / 1 CH₃COONa, pH5.5, 100 μ M PPT, MtL)

	L *	a *	b *	灰色等級
綿	58.94	2.38	1.97	3 - 4

表 37 - 前駆体 B 及び C についての洗濯堅牢度の結果

(2 g / 1 CH₃COONa, pH5.5, 100 μ M メチルシリリングート、MtL)

	L *	a *	b *	灰色等級
綿	59.91	3.09	5.13	2 - 3

これら 2 組の実験由来の結果は染色のため及び改善された洗濯堅牢度を得るた

めに媒体が使用できうることを示す。双方の実験において、綿をpH5.5においてCH₃COONaバッファー中で、PPT 含むCH₃COONaバッファー中で、及びメチルシリゲートを含むCH₃COONaバッファー中で染色した。しかしながら、媒体は第一実験においてのみ改善された洗濯堅牢度を供した。

例 10

染色材料（全てTest Fabrics, Inc.より入手）は綿（スタイル 400, 8 cm× 8 cm）、ジアセテート（スタイル 122, 5 cm× 6 cm）、ナイロン6.6（スタイル 361, 6 cm× 6 cm）及びナイロン6（スタイル 322, 6 cm× 6 cm）とし、Atlas Launder-0-Meter（「LOM」）で30℃で1時間、pH5.5で染色した。

0.5mg/mlの第一化合物溶液（p-フェニレンジアミン「A」）及び0.5mg/mlの第二化合物溶液（1-ナフトール「B」）を、これらの化合物を適量の0.1 MのCH₃COONa, pH5.5 バッファーの中に溶解することにより調製した。100mlの総容量を各LOM ビーカーに用いた。100mlの「A」を一個のビーカーに入れ、そして50mlの「A」及び50mlの「B」を第二ビーカーの中で組合せて100mlにした。上記の材料の見本をDI水の中で湿らし、そして前駆体溶液の中に浸した。180,000POXU/mlの活性を有するコプリヌス・シネレウスベルオキシダーゼ（「CiP」）を各ビーカーに0.05POXU/mlの濃度で加えた。各LOM ビーカーに200又は500 μMの過酸化水素を加えた。これらのLOM ビーカーに封をし、そしてLOMに載せた。42RPM及び30℃で1時間後、LOMを停止させた。消費液を注ぎ出し、そして見本を冷水道水で約15分すすいだ。見本を室温で乾かし、そしてCIELAB値をMacbeth Colordye 7000を利用して全ての見本について測定した。その結果を表38～41に示す。

表 38 - 前駆体 A による染色, 200 μM H₂O₂

	L *	a *	b *
綿	74.57	2.17	-1.83
ナイロン 6.6	68.75	3.19	0.99
ナイロン 6	74.73	2.37	1.86
ジアセテート	54.49	6.34	2.10

表 39 - 前駆体 A による染色, 500 μ M H_2O_2

	L *	a *	b *
綿	65.49	3.18	-1.94
ナイロン 6.6	64.11	3.76	-0.30
ナイロン 6	56.71	5.81	1.48
ジアセテート	58.64	3.95	2.49

表 40 - 前駆体 A 及び B による染色, 200 μ M H_2O_2

	L *	a *	b *
綿	76.58	4.86	-1.45
ナイロン 6.6	59.16	6.29	-20.92
ナイロン 6	65.33	5.11	-18.75
ジアセテート	44.06	21.67	-20.13

表 41 - 前駆体 A 及び B による染色, 500 μ M H_2O_2

	L *	a *	b *
綿	75.02	4.99	-2.11
ナイロン 6.6	52.69	7.88	-23.32
ナイロン 6	58.72	6.61	-21.75
ジアセテート	35.16	23.70	-22.26

これらの結果は、様々な繊維のタイプが前駆体、ペルオキシド及びコプリヌス・シネレウス(CiP)ペルオキシダーゼを利用して染色されうることを示す (A 及

び A / B で紫色の色相)。

例 11

5 mg / ml のパラフェニレンジアミンを 0.1 M のリン酸ナトリウム、pH 5.5 のバッファーに溶かし、そして 2.5 % のアラビアゴムを添

加することによりプリントペーストを作る。このプリントペーストをプリンティングスクリーン及びスクレーパーを用いてナイロン布帛に手動式に転写する。プリントしない布帛の一部にはマスクをかぶせる。

次いで布帛をスチームチャンバーの中に10分スチームし、そして乾燥させる。色は布帛を 2 LACU / ml のラッカーゼ溶液に浸し、次いで 1 時間インキュベーションすることにより発色させる。

例 12

単環、二環又は多環式芳香族又はヘテロ芳香族化合物はバジングにより材料に適用し得る。例えば、0.5 mg / ml の p - フェニレンジアミンを 500 ml の 0.1 M の K_2PO_4 、pH 7 バッファーに溶かす。ラッカーゼを同じバッファーに希釈する。p - フェニレンジアミンを標準の研究室パッドを用い、60℃で材料にバジングする。スチームした材料は酵素溶液により 2 回バジングを施してよい。染料は見本を 40℃でインキュベーションすることにより発色させる。インキュベーション後、見本を温流水道水で約 30 秒すすぐ。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PC1/US 96/20625

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 D06P1/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 D06P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE WPI Section Ch, Week 9021 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class A35, AN 90-161489 XP002030252 & JP 02 104 773 A (NAGASE SANGYO KK) , 17 April 1990 see abstract	1,6-20, 24-26
X	DATABASE WPI Section Ch, Week 9120 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class D16, AN 91-143144 XP002030253 & JP 03 077 813 A (SARUYA R) , 3 April 1991 see abstract	1-5,12, 20-26
	--- -/-	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

25 April 1997

Date of mailing of the international search report

20.05.97

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2220 MV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Blas, V

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PC1/US 96/20625

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	FR 2 694 018 A (L'OREAL) 28 January 1994 see the whole document ---	1-5,12, 20-29
X	FR 2 112 549 A (THE PROCTER & GAMBLE COMPANY) 16 June 1972 see the whole document ---	1-5,12, 20-29
X	WO 94 00100 A (L'OREAL ;SAMAIN HENRI (FR); DUBIEF CLAUDE (FR)) 6 January 1994 see the whole document ---	1-5,12, 20-29
X	DATABASE WPI Section Ch. Week 9505 Derwent Publications Ltd., London, GB: Class D16, AN 95-033019 XP002030254 & JP 06 316 874 A (KURABO IND LTD) , 15 November 1994 cited in the application see abstract ---	1-6, 8-10, 15-29
X	WO 95 33836 A (NOVO NORDISK BIOTECH INC ;NOVONORDISK AS (DK)) 14 December 1995 cited in the application see page 16, line 1 - page 17, line 27 ---	1-29
A	WO 92 18683 A (NOVONORDISK AS) 29 October 1992 see the whole document ---	1-29
A	EP 0 431 682 A (EASTMAN KODAK CO) 12 June 1991 ---	
P,X	DATABASE WPI Section Ch. Week 9630 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class A11, AN 96-295885 XP002030255 & JP 08 127 976 A (OSAKA PREFECTURE) , 21 May 1996 see abstract -----	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.

PCT/US 96/28625

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
FR 2694018 A	28-01-94	NONE	
FR 2112549 A	16-06-72	AU 3541171 A	10-05-73
		BE 775109 A	09-05-72
		DE 2155359 A	25-05-72
		GB 1320250 A	13-06-73
		NL 7115362 A	12-05-72
WO 9400100 A	06-01-94	FR 2692782 A	31-12-93
		DE 69301464 D	14-03-96
		DE 69301464 T	05-06-96
		EP 0645999 A	05-04-95
		JP 7500271 T	14-09-95
		US 5538517 A	23-07-96
WO 9533836 A	14-12-95	AU 2656595 A	04-01-96
		CA 2191718 A	14-12-95
		EP 0765394 A	02-04-97
		FI 964808 A	02-12-96
WO 9218683 A	29-10-92	NONE	
EP 0431682 A	12-06-91	US 5176999 A	05-01-93
		AT 118097 T	15-02-95
		CA 2028175 A	08-06-91
		DE 69016617 D	16-03-95
		DE 69016617 T	12-10-95
		JP 3251764 A	11-11-91
		US 5366864 A	22-11-94

フロントページの続き

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(KE, LS, MW, SD, SZ, UG), UA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AL, AU, BB, BG, BR, CA, CN, CZ, EE, GE, HU, IL, IS, JP, KP, KR, LK, LR, LT, LV, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, SG, SI, SK, TR, TT, UA, UZ, VN

(72)発明者 パーフォード, マーティン
アメリカ合衆国, ノースカロライナ
27604, ラレー, ロイヤル トルーン ド
ライブ 4708

(72)発明者 キルク, オレ
デンマーク国, デーコ—2830, ビルム,
ビスプ ベデルス ベイ 6

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record.**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☒ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.